

令和 3 年 5 月 13 日現在

機関番号：23903

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2017～2020

課題番号：17K11397

研究課題名（和文）腫瘍溶解ウイルス HF10を用いた唾液腺癌への新たな治療法の開発

研究課題名（英文）Oncolytic virotherapy for salivary carcinoma

研究代表者

江崎 伸一（Esaki, Shinichi）

名古屋市立大学・医薬学総合研究院（医学）・講師

研究者番号：20620983

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,500,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、腫瘍溶解ウイルス療法を用いた唾液腺癌に対する新規治療法の可能性を示した。ヒト顎下腺癌細胞株、マウス顎下腺癌細胞株、顎下腺癌由来初代培養株への腫瘍溶解ウイルスHF10の殺細胞効果を示した。その後マウス耳下腺にA253を移植して耳下腺癌も出るマウスを作成した。5-FUのプロドラッグであるS-1とHF10の両方で治療することにより、各単独治療より強力な抗腫瘍効果が得られた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

唾液腺癌に対する化学療法、放射線療法の効果は十分でなく、現在有効と示されている治療法は手術療法のみであり、新たな治療法の開発が必要とされている。唾液腺癌も頭頸部扁平上皮癌と同様に腫瘍内治療が可能な腫瘍であり、HF10が新規治療法の選択肢となる可能性が十分考えられる。本研究により腫瘍溶解ウイルス療法を用いた唾液腺癌に対する新規治療法の可能性が示された。

研究成果の概要（英文）：In this study, we demonstrated the potential of tumor lysis virus therapy as a novel treatment for salivary gland cancer. We showed the cell-killing effect of tumor lysis virus HF10 on human submandibular gland cancer cell line, mouse submandibular gland cancer cell line, and submandibular gland cancer-derived primary culture line. Treatment with both S-1, a prodrug of 5-FU, and HF10 showed more potent antitumor effects than each treatment alone.

研究分野：耳鼻咽喉科

キーワード：唾液腺癌 腫瘍溶解ウイルス療法 5-FU

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

がんの治療にウイルスを利用するという研究は 1950 年代より行われてきた。近年のウイルスの機能解析と遺伝子工学技術の進歩により、ウイルスの正常組織に対する病原性を排除し、癌細胞特異的に増殖し、破壊するような治療が可能になってきた。現在、様々なウイルスが前臨床的研究、臨床治験に用いられるようになり、国際抗腫瘍ウイルス学会 (International Conference on Oncolytic Virus) で報告されている。

我々の共同研究先である名古屋大学医学部ウイルス学教室では、自然発生型の弱毒型単純ヘルペスウイルス 1 型から HF10 をクローニングした。申請者らは、HF10 が多くの癌細胞株で増殖性が非常に高く、マウス腫瘍モデルにも優れた抗腫瘍性を示し、かつ安全性が高いことを報告してきた (頭頸部扁平上皮癌、大腸癌、乳癌、膵癌、卵巣癌、悪性黒色腫、線維肉腫等)。現在では再発頭頸部癌などを対象に、米国と本邦で (NCT01017185、NCT02428036) 第 I/II 相試験が行われている。

HF10 による抗腫瘍効果は、頭頸部扁平上皮癌を含む様々な悪性腫瘍に対して認められている。HSV-1 は、ヒトを自然宿主とし、ほとんどのヒト由来の細胞で感染、増殖可能である。顎下腺癌細胞においても同様に感染、増殖し、抗腫瘍効果を示すことが予想される。また、ゲムシタピン、ダカルバジン等を用いて HF10 の抗腫瘍効果を増強させる研究を行ってきたが、他の化学療法剤も、適切なタイミングに併用することにより抗腫瘍効果を増強させることができると予想される。

頭頸部領域に発生する悪性腫瘍の 90%以上が扁平上皮癌であり、唾液腺癌の頻度は低い。しかし唾液腺癌に対する化学療法、放射線療法の効果は十分でなく、現在有効と示されている治療法は手術療法のみであり、新たな治療法の開発が必要とされている。申請者は前回交付された科研費を利用して、頭頸部扁平上皮癌への HF10 の抗腫瘍効果を示した。唾液腺癌も頭頸部扁平上皮癌と同様に腫瘍内治療が可能な腫瘍であり、HF10 が新規治療法の選択肢となる可能性が十分考えられる。しかし、頭頸部非扁平上皮癌への腫瘍溶解ウイルス療法についての報告は存在しない。そこで、今回は腫瘍溶解ウイルス療法を用いた唾液腺癌に対する新規治療法を開発する。

2015 年に初めての腫瘍溶解ウイルス (Talimogene laherparepvec) が第 III 相試験を終え、悪性黒色腫に対する効果を示した。腫瘍溶解ウイルス療法は、化学療法、放射線療法と異なるため、両者に耐性となった腫瘍にも効果が期待される。また、頭頸部癌は経皮的、経粘膜的に腫瘍内に接種できることが多く、抗腫瘍ウイルス療法は従来の治療法に耐性な腫瘍にも効果が期待できる治療法と考えられる。また、HF10 は我が国で分離され、初めて臨床研究が行われた腫瘍溶解ウイルスであり、今後、我国独自の新たな抗腫瘍ウイルス療法を進めていくためにも、様々な頭頸部癌に対する HF10 の抗腫瘍効果を検討していく必要がある。

2. 研究の目的

腫瘍溶解ウイルス療法を用いた唾液腺癌に対する新規治療法を開発することを目的として前臨床的な研究を行う。

3. 研究の方法

(1) HF10、化学療法剤を使用した際の唾液腺癌細胞株への抗腫瘍効果 (in vitro)

ヒト顎下腺癌細胞株として A253、マウス顎下腺癌細胞株として WR21、SCA9、顎下腺癌由来初代培養株として NSDC-5F、NAC-17F を用いた。それぞれを 96 well plate にまいて、翌日に HF10 をウイルス力価 (MOI) をかえて投与した。細胞生存率を MTS assay で測定した。

また、各細胞株を 96 well plate にまいて、翌日にシスプラチン、5-FU を濃度をかえて投与し、細胞生存率を細胞生存率を MTS assay で測定した。

(2) 耳下腺癌マウスモデルを用いた HF10、S-1 併用療法の抗腫瘍効果 (in vivo)

A253 をマウス耳下腺に接種して耳下腺癌マウスモデルを作成した。その後 S-1 を 2 日間経口投与し、HF10 を腫瘍内に接種し、耳下腺腫瘍の大きさを経時的に観察した。耳下腺腫瘍が 1.5cm を超えた時点で sacrifice し、マウスの生存を検討した。

(3) 耳下腺癌マウスモデルへの HF10、S-1 併用療法の組織学的検討 (in vivo)

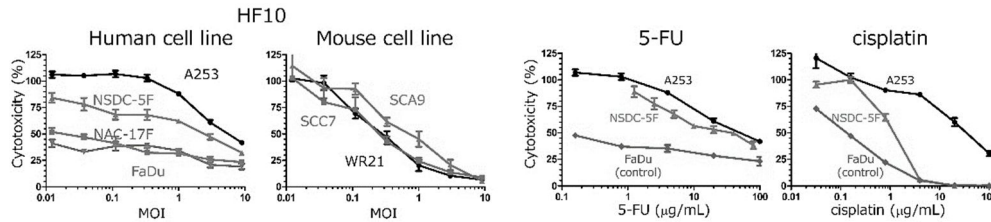
A253 をマウス耳下腺に接種して耳下腺癌マウスモデルを作成した。その後 TS-1 を 2 日間経口投与し、HF10 を腫瘍内に接種し、24 時間後に耳下腺腫瘍を採取した。連続切片を H&E 染色、抗 HSV 抗体にて免疫染色を行い、両治療による組織学的変化を検討した。

4. 研究成果

(1) HF10、化学療法剤を使用した際の唾液腺癌細胞株への抗腫瘍効果 (in vitro)

顎下腺癌細胞株 A253、SCA9、WR21、顎下腺癌初代細胞株 NSDC-5F、NAC-17F の全てに対して HF10 は効果を認めた。しかし、その効果は咽頭癌細胞株 FaDu や扁平上皮癌 SCC7 と比べて劣るものであった。

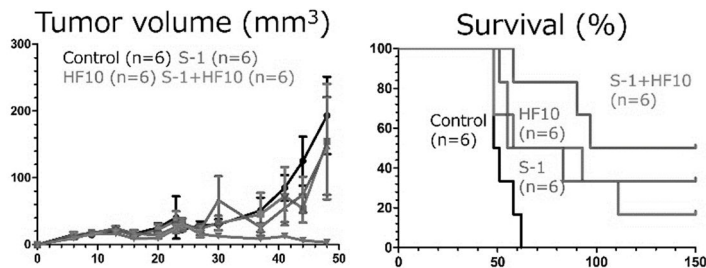
A253、NSDC-5F は 5-FU、シスプラチンに濃度依存的な殺細胞効果を認めたが、その効果は FaDu と比して劣っていた。



(2) 耳下腺癌マウスモデルを用いた HF10、S-1 併用療法の抗腫瘍効果

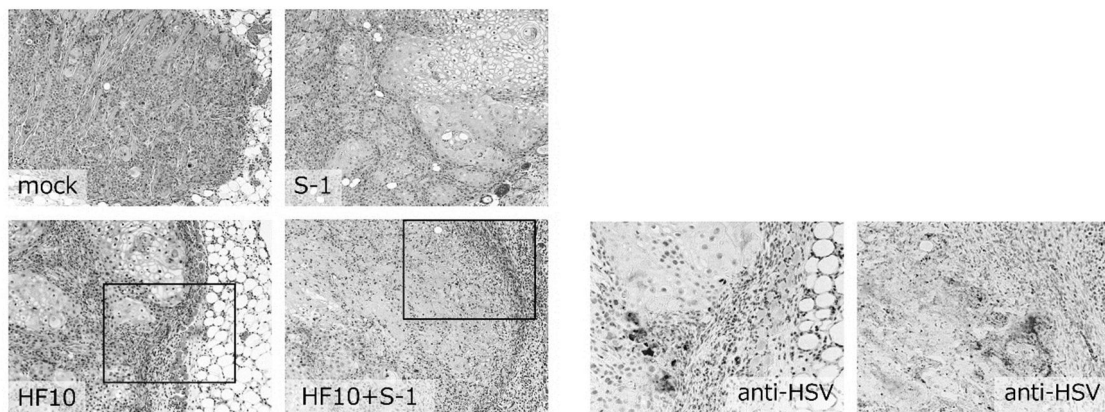
in vivo での抗腫瘍効果を検討するため、A253 細胞株で耳下腺癌モデルマウスを作成した。5-FU は静脈投与すると体内での代謝速度が速く生体内利用率が悪いため、経口薬である S-1(商品名: TS-1)を用いた。S-1 を 2 日間経口投与し、その後 HF10 を耳下腺腫瘍内に接種した。それぞれに薬剤を含まないコントロールを作成し、無治療群、S-1 単独治療群、HF10 単独治療群、S-1+HF10 併用群を作成した。

各単独治療で耳下腺腫瘍は縮小し、生存延長効果が認められた。また、両治療を併用することにより耳下腺腫瘍は著明に縮小し、著明な生存延長効果が認められた。



(3) 耳下腺癌マウスモデルへの HF10、S-1 併用療法の組織学的検討 (*in vivo*)

上記と同様のプロトコルで S-1、HF10 を投与し、組織を採取し、組織学的に検討を行った。S-1、HF10 治療により唾液腺癌内には壊死が認められた。併用群では壊死がさらに著明であった。HF10 感染領域を検討したところ、壊死している部位の一部に HSV 陽性領域が認められ、HF10 感染領域と一致していると考えられた。



(4) 将来展望

現在 5-FU 存在下で HF10 の増殖や殺細胞効果に変化があるか確認を行っている。HF10 の増殖や殺細胞効果に変化を確認し、研究をまとめて英文誌に投稿予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Shinichi Esaki
2. 発表標題 Oncolytic activity of HF10, a naturally-attenuated HSV-1 for head and neck squamous cell carcinoma
3. 学会等名 5th Congress of the Confederation of European Otorhinolaryngology - Head and Neck Surgery (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Shinichi Esaki
2. 発表標題 Combination therapy with HF10 and S-1 for salivary gland carcinoma
3. 学会等名 12th International Oncolytic Virus Conference (国際学会)
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	濱島 有喜 (Hamajima Yuki) (30343403)	名古屋市立大学・医薬学総合研究院(医学)・研究員 (23903)	
研究分担者	五島 典 (Goshima Fumi) (70201499)	名古屋大学・医学系研究科・講師 (13901)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------